10 月 October
2020, 63(10): 1171 – 1182
昆 虫 学 报
ACTA ENTOMOLOGICA SINICA
http://www.insect.org.cn
doi: 10.16380/j.kcxb.2020.10.002

埃及伊蚊不同组织的基因共表达模式分析

刘 杰, 李 勃, 陈晓洁, 陈 斌*

(重庆师范大学昆虫与分子生物学研究所, 媒介昆虫重庆市重点实验室, 重庆 401331)

摘要:【目的】利用权重基因共表达网络分析(weighted gene co-expression network analysis, WGCNA)探索埃及伊蚊 *Aedes aegypti* 不同组织基因共表达模式。【方法】从 NCBI SRA 数据库中选择埃及伊蚊不同组织的转录组数据中具代表性的 9 种组织(雌雄成蚊的触角和脑,雌蚊的喙、下颚须和卵巢,雄成蚊的前足、中足、后足和腹部末端)的双端测序数据;经过缺失值移除以及方差计算后,筛选出方差最大的 5 000 个基因,利用 R 软件中 WGCNA 包建立埃及伊蚊成蚊不同组织的基因共表达网络并划分模块;然后利用 clusterProfiler 包对组织特异性模块内的基因进行 GO(Gene Ontology)和 KEGG(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)富集分析,并用 Cytoscape 软件中的 CytoHubba 插件筛选共表达模块内的 hub 基因。【结果】从埃及伊蚊成蚊不同组织中共鉴定出 11 个基因共表达模块,在雌蚊触角、喙、卵巢、下颚须以及雄蚊脑、腹部末端组织中各鉴定出 1 个特异性表达模块,雄蚊前足、中足和后足组织中无特异性表达模块。6 个组织特异性表达模块内基因功能注释到组织生物学功能;其中,雌蚊触角特异性 green 模块内基因具有气味结合和嗅觉受体活性等功能;雌蚊喙特异性 purple 模块内基因具有丝氨酸型肽链内切酶活性和丝氨酸水解酶活性等功能;雄蚊脑特异性 blue 模块内基因在生物学过程调节、信号转导和神经系统过程等生物学过程中发挥主要作用。利用 CytoHubba 进一步鉴定出所选组织特异性共表达模块中具有高连通性的 hub 基因,包括 *AAEL*010426, *AAEL*002896, *AAEL*002600, *AAEL*000961, *AAEL*007784 和 *AAEL*006429。【结论】本研究依据埃及伊蚊不同组织转录组数据,利用 WGCNA 方法发现了许多重要的基因共表达模块。本研究的结果为蚊虫基因共表达模式分析提供新思路和方法基础,对探究蚊虫不同组织特有的基因资源信息以及功能基因生物信息学研究有参考价值。

关键词: 埃及伊蚊; WGCNA; 共表达模式; 转录组; hub 基因

中图分类号: Q966 **文献标识码:** A **文章编号:** 0454-6296(2020)10-1171-12

Analysis of gene co-expression patterns in different tissues of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)

LIU Jie, LI Bo, CHEN Xiao-Jie, CHEN Bin* (Chongqing Key Laboratory of Vector Insects, Institute of Insect and Molecular Biology, Chongqing Normal University, Chongqing 401331, China)

Abstract:【Aim】To explore the co-expression patterns of genes in different tissues of *Aedes aegypti* by using weighted gene co-expression network analysis (WGCNA).【Methods】Paired sequencing data of representative nine adult tissues (antenna and brain of female and male, proboscis, maxillary palp and ovary of female, and foreleg, midleg, hindleg and abdominal tip of male) were selected from the transcriptome data of different tissues of *A. aegypti* in the NCBI SRA database. After removing missing values and calculating variance, 5 000 genes with the highest variance were chosen, and the WGCNA

基金项目: 国家自然科学基金项目(31872262, 31672363); 重庆市自然科学基金面上项目(CSTC2019JCYJ-MSXMX0527); 重庆市教委科学研究项目(KJQN201800523); 重庆师范大学科研启动基金(17XLB017)

作者简介: 刘杰, 男, 1995 年 2 月生, 重庆垫江人, 硕士研究生, 研究方向为生物信息学, E-mail: 1471447118@qq.com

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: bin.chen@cqnu.edu.cn

收稿日期 Received: 2019-12-25; 接受日期 Accepted: 2020-05-15

package in R software was used to establish the gene co-expression networks in different adult tissues of *A. aegypti* and divide modules. Then the clusterProfiler package was used to conduct GO (Gene Ontology) and KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) enrichment analysis of the genes in the tissue-specific modules, and CytoHubba plug-in in Cytoscape software was adopted to screen the hub genes in co-expression modules. 【Results】A total of 11 gene co-expression modules in different adult tissues of *A. aegypti* were identified, and one specific expression module was identified in every tissue of the antenna, proboscis, ovary and maxillary palp of female adult, and the brain and abdominal tip of male adult. There was no specific expression module in tissues of the foreleg, midleg and hindleg of male adults. Genes in six tissue-specific expression modules were annotated to biological functions of the corresponding tissues. Among them, genes in the female antenna specific green module have functions such as odor binding and olfactory receptor activity. Genes in the female proboscis specific purple module have functions such as serine-type endopeptidase activity and serine hydrolase activity. Genes in the male brain specific blue module play a major role in regulation of biological process, signal transduction, and nervous system processes. The hub genes with high connectivity in selected tissue-specific modules, including *AAEL*010426, *AAEL*002896, *AAEL*002600, *AAEL*000961, *AAEL*007784 and *AAEL*006429, were identified by using CytoHubba. 【Conclusion】In this study, based on the transcriptome data of different tissues of *A. aegypti* we discovered many important co-expressed gene modules by using the WGCNA method. The results provide new ideas and a method basis for the analysis of mosquito gene co-expression patterns and have reference value for exploring the unique gene resource information and bioinformatical studies of functional genes in different tissues of mosquitoes.

Key words: *Aedes aegypti*; WGCNA; co-expression pattern; transcriptome; hub gene

截至 2017 年,全球已知蚊虫约 3 573 种,其中我国约有 419 种(付文博和陈斌, 2018)。它们分布广,繁殖快。绝大多数种类的雌蚊需要吸食血液作为补充营养以使卵正常发育。因其吸血行为,蚊虫传播许多危险的人类疾病的病原体,是多种恶性传染病的传播媒介(Tolle, 2009)。蚊媒病是人类健康的主要威胁,每年全球有 7 亿人受感染,造成 70 多万人死亡。近年来,登革热发病率大幅度增长,全球约有一半人口面临登革热的威胁(WHO, 2019)(https://www.who.int/zh/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue)。埃及伊蚊 *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762)是登革热病毒的主要传播媒介,同时也携带基孔肯雅热、黄热病以及寨卡病毒病等传染病病原。这些疾病每年在全世界造成数亿人感染,导致数万人死亡,并呈逐年上升趋势(Akbari *et al*., 2013)。媒介蚊虫的控制是蚊媒病控制的关键,已成为当今社会所面临的亟待解决的重大问题之一。蚊虫的不同组织承担不同的生理功能,掌握它们的基因表达差异有利于认知它们的生物学功能。蚊虫的遗传控制是蚊虫潜在的重要控制措施之一,弄清蚊虫不同组织在行使功能过程中的共表达基因以及起重要作用的核心(hub)基因有利于寻找遗传控制的靶标基因。

转录组是特定细胞或组织在特定时间或状态下所有转录产物的集合(Wang *et al*., 2010),通过对转录组的研究可以揭示蚊虫组织分化过程中的基因表达模式和结构变异,并发现新基因等。近年来,随着 microarray 和 RNA-Seq 等高通量技术的飞速发展与成本的降低,产生了大规模蚊虫组织转录组学数据(Martínez-Barnetche *et al*., 2012; Matthews *et al*., 2016; Chen *et al*., 2017)。传统的转录组学研究主要是在两类样本相互比较的基础上,鉴定差异表达基因,进而对差异基因进行注释与富集分析,并挖掘这些基因的功能表现和参与的通路(pathway),从而解析相关的生物学问题或分子机制。但这样的研究策略主要局限于对组间差异表达的基因进行研究,容易忽略掉基因之间的协同表达或表达互作。目前,基于全局的权重基因共表达网络分析(weighted gene co-expression network analysis, WGCNA)正好为这个问题的解决带来了契机。WGCNA 分析基于大样本转录组数据,根据基因表达水平的不同将基因聚类,具有相似表达模式的基因会被划分到同一个模块,同一模块中的基因常具有相似的生物学功能(杨宇昕等, 2019)。作为一种系统生物学分析方

法，WGCNA 可以用来鉴定高度协同变化的基因集、挖掘与目标组织或性状相关的特异性模块，并可进一步研究模块内基因的互作关系，以及筛选 hub 基因（Langfelder and Horvath, 2008），且在描述解析复杂表型下的分子作用机制和网络关系等方面具有独特优势。自 WGCNA 方法和软件包开发以来，它已广泛应用于多个研究领域，并取得了一系列的研究成果（Greenham *et al*., 2017；Liu *et al*., 2018；Deng *et al*., 2019）。

在蚊虫转录组研究领域，Hickner 等（2015）用 WGCNA 方法研究了尖音库蚊 *Culex pipiens* 滞育诱导的潜在调控机制，构建了包含 5 个模块的基因共表达网络，通过对网络模块中基因的富集分析，鉴定出了与滞育诱导相关的多个基因集；通过对埃及伊蚊环境驱动变异介导的模块化基因网络研究，Kang 等（2018）揭示了先天免疫反应的关键转录调控因子和关键基因。这些研究表明，将转录组学数据与 WGCNA 方法相结合，可为探索蚊虫生物学过程相关分子机制提供强有力的工具。然而，尚未有基于 WGCNA 方法对蚊虫不同组织基因共表达模式的研究。

蚊虫的不同组织在其传播疾病过程中起着重要的作用，可作为防控的靶标。本研究利用 WGCNA 方法，结合 RNA-Seq 转录组数据，构建了埃及伊蚊 9 种组织加权基因共表达网络，挖掘出与组织特异性相关的共表达模块，研究模块基因功能，并筛选出在组织特异性模块内起重要作用的 hub 基因，揭示基因间的相互作用关系，旨在为探究蚊虫不同组织特有的基因资源信息，进而解析基因功能与组织功能的联系，筛选遗传控制的靶标基因提供新的思路和途径。

1　材料与方法

1.1　转录组数据来源

埃及伊蚊不同组织的转录组数据来源于 NCBI（National Center for Biotechnology Information）的 SRA（Sequence Read Archive）数据库，获取码为 PRJNA236239（Matthews *et al*., 2016）。选择其中未吸血状态下雌蚊和雄蚊 9 种组织的双端测序数据进行分析，包括雌蚊的触角、脑、喙、下颚须、卵巢，以及雄蚊的触角、脑、前足、中足、后足和腹部末端（被定义为雄蚊包括生殖器在内的 3 个末端腹节）等。不同组织数据包含的生物学重复次数为：雌蚊喙 5 次生物学重复，触角、下颚须 4 次重复，卵巢 3 次重复，脑 2 次重复，雄蚊各组织均 3 次重复，总计 36 个样本。WGCNA 分析根据基因表达水平的不同将基因聚类。在转录组研究中，可通过比对到基因组区域或基因外显子区的测序序列（reads）计数（read counts）来估计基因的表达水平。但 reads 计数除了与基因的真实表达水平成正比外，还与基因的长度和测序深度成正相关，因此使得不同基因的表达水平不具有可比性。为了解决这个问题，人们引入了 FPKM（fragments per kilobase million）、RPKM（reads per kilobase million）和 TPM（transcripts per million）的概念。其中 TPM 是每百万条 reads 的转录本，其同时考虑了测序深度和基因长度对 reads 计数的影响，是目前常用的衡量基因表达水平的方法之一。本研究中埃及伊蚊不同组织基因的 TPM 值采用 Matthews 等（2016）文献中 Additional File 6 中的结果。

1.2　基因共表达网络构建

采用 TPM 值作为标准化的基因表达水平定量，本研究共纳入 36 个样本。在应用 WGCNA 前，基于公式 $\log_2$（TPM + 1）对数据进行转换（赵志洪，2017）。经过缺失值移除以及方差计算后，筛选出方差最大的 5 000 个基因，使用 R（v. 3. 6. 1）软件中（https://cran. r-project. org/bin/windows/base/old/）的 WGCNA（v. 1. 67）包来构建加权基因共表达网络并划分模块。首先利用函数 pickSoftThreshold（Langfelder and Horvath, 2008）计算权重值，通过选择合适的权重值，使网络符合无尺度网络分布。

根据上一步分析结果，选择最优的软阈值。使用自动网络构建函数 blockwiseModules（Langfelder and Horvath, 2008）构建共表达网络，除参数 minModuleSize = 50 外，其余参数按照默认设置。

1.3　基因表达组织特异性模块鉴定

一组表达模式高度相似的基因常聚集在同一模块，而具有相似表达模式的基因被认为具有类似的生物学功能（杨宇昕等，2019）。一般而言，如果某模块与样品的某种特定表型的相关性显著高于其他模块，说明这一个模块可能与该表型存在强的关联，为特异性模块。本研究由于只有埃及伊蚊不同组织的转录组数据，并没有其他表型数据，在此直接将不同组织作为研究的表型性状，以分析模块与组织的联系。首先建立一个行为 36 个组织样本，列为 11 个不同取样组织名称的矩阵，若行与列为同一组织，即为 1，不是同一组织即为 0。计算每个模块特征向

量基因(module eigengene, ME)和这个矩阵之间的相关系数,该数值越接近1,表示模块与样品表型的正相关性越强;越接近-1,表示模块与样品表型负相关性越强。本研究中模块与组织高度正相关的筛选标准为:模块与组织相关系数大于0.65,且统计显著性 $P<0.05$。选择与组织高度正相关的模块,作为组织特异性模块进行后续分析(Downs *et al.*, 2013)。

1.4 组织特异性模块基因的GO和KEGG富集分析

首先,使用Bioconductor中的AnnotationHub(v. 2.18.0)包获取埃及伊蚊的注释信息,下载埃及伊蚊OrgDb数据库(AH76482, v.2.1)中的注释数据,再利用Bioconductor中的clusterProfiler(v.3.14.3)包对模块内基因进行GO(Gene Ontology)和KEGG(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)富集分析(Yu *et al.*, 2012)。一般情况下,$P<0.01$, $q<0.05$,则为富集功能项或通路。

1.5 模块基因互作网络构建筛选hub基因

导出WGCNA共表达网络分析结果到Cytoscape(v.3.7.1)软件(Su *et al.*, 2014)中,对基因调控网络进行可视化。通过CytoHubba插件的12种算法,得到连接度在前10的基因,选择在不同算法中重复出现次数大于5的基因,在本研究中被定义为hub基因。

2 结果

2.1 权重基因共表达网络构建

根据基因表达水平对样本进行聚类。如图1所示,基于平均(average)距离和层次聚类算法聚类结果表明,基因表达模式除了在雄成蚊前足和中足中

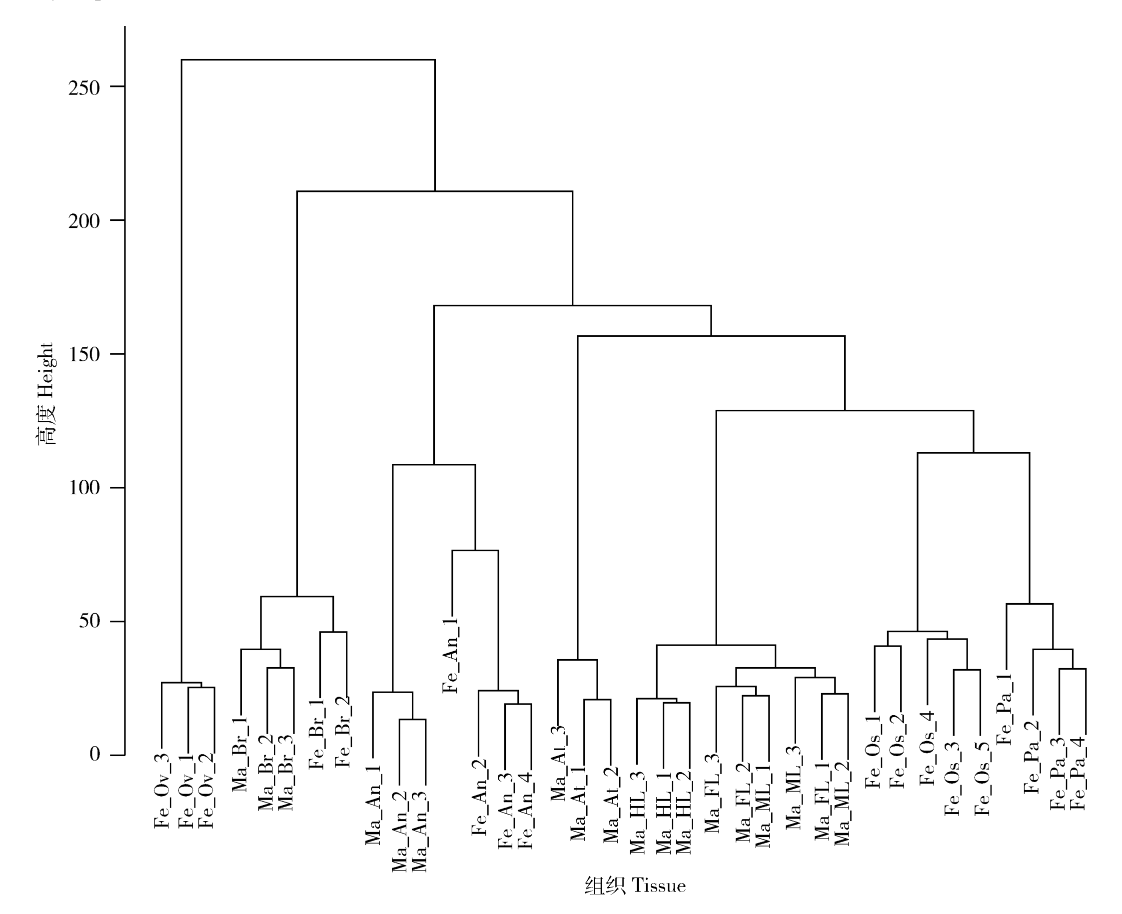


图1 基于基因表达水平的埃及伊蚊成蚊不同组织聚类

Fig. 1 Clustering of different adult tissues of *Aedes aegypti* based on gene expression levels

Fe_Ov: 雌蚊卵巢 Female ovary; Ma_Br: 雄蚊脑 Male brain; Fe_Br: 雌蚊脑 Female brain; Ma_An: 雄蚊触角 Male antenna; Fe_An: 雌蚊触角 Female antenna; Ma_At: 雄蚊腹部末端 Male abdominal tip; Ma_HL: 雄蚊后足 Male hindleg; Ma_FL: 雄蚊前足 Male foreleg; Ma_ML: 雄蚊中足 Male midleg; Fe_Os: 雌蚊喙 Female proboscis; Fe_Pa: 雌蚊下颚须 Female maxillary palp。根据基因表达水平,采用平均距离和层次聚类算法对样本进行聚类。横轴表示埃及伊蚊成蚊不同组织,代号末位的数字表示该组织的重复样本;纵轴代表基因间的聚类高度。According to gene expression level, average distance and hierarchical clustering algorithm were used to cluster the samples. The abscissa represents the different adult tissues of *A. aegypti*, the last digit of the code represents a duplicate sample of the tissue, and the ordinate represents the cluster height of genes.

出现了一定的散乱之外，测序所用的埃及伊蚊成蚊组织大多具有很高的重复性。雌/雄成蚊的触角、脑中基因表达模式相近，聚类在一起；雄成蚊前足、中足及后足中基因表达模式相近，聚类在一起；雌成蚊喙与下颚须中基因表达模式相近，聚类在一起。对软阈值（β）进行筛选，最终选取 β 值为 12。通过 WGCNA 方法成功构建埃及伊蚊成蚊不同组织加权基因共表达网络，并将网络划分为 11 个模块（图 2：A）。图 2（A）上半部分的聚类树中每个枝代表一个模块，每个枝上的叶代表一个基因，图 2（A）下半部分的模块颜色中每个颜色代表一个模块。共表达模块中基因的具体数量如图 2（B）所示。模块中基因个数 123 ~ 1 423 不等，共含有 5 000 个基因。其中 turquoise 模块包含的基因数目最多，达 1 423；greenyellow 模块内的基因数量最少，为 123；grey 表示未划分到模块中的基因，图 2（A）中 grey 模块基本不可见，因未划分到模块的基因仅有 7 个。

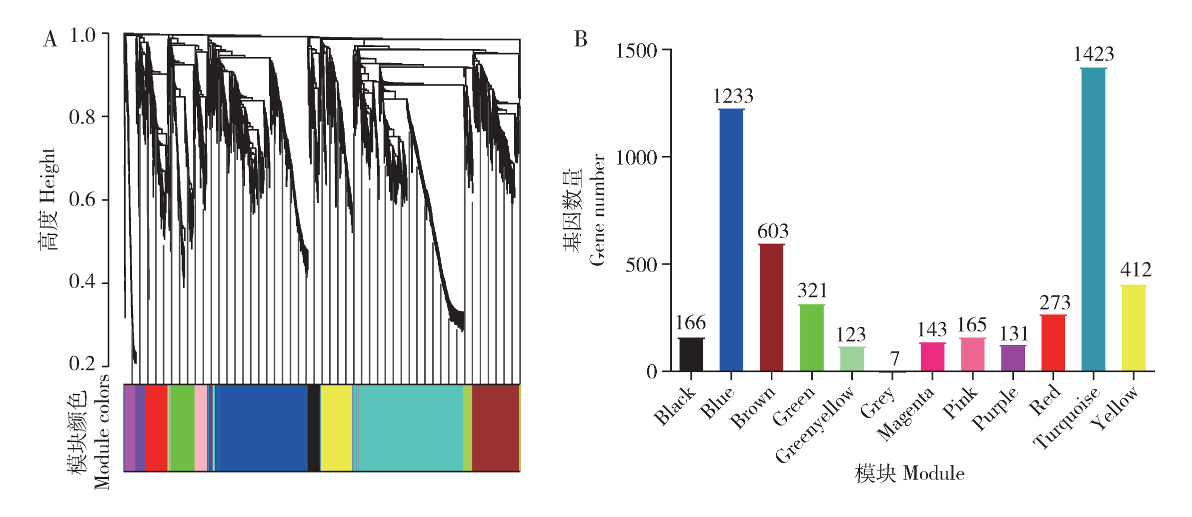


图 2　埃及伊蚊成蚊不同组织基因共表达模块

Fig. 2　Gene co-expression modules in different adult tissues of *Aedes aegypti*

A：基因聚类数和模块分割。上半部分表示基因聚类所得聚类树，纵坐标代表各基因间的聚类距离；下半部分表示按树的分枝切割得到的模块，相同模块用同一颜色表示。Clustering dendrogram of genes and module splitting. The upper part represents dendrogram tree obtained by gene hierarchical clustering, and the ordinate represents the clustering distance between genes. The lower half represents the module cut by the branches of the tree, and the same module is represented by the same color. B：共表达模块中基因数量分布。横坐标代表模块，纵坐标代表模块中的基因数目，不同的颜色与模块名称对应，每个柱子上的数字表示该模块内的基因数目。Distribution of gene number. The abscissa represents the module, and the ordinate represents the number of genes in the module. Different colors correspond to the module name. The number on each column represents the number of genes in the module.

2.2　组织特异性模块分析结果

通过筛选发现在 11 个模块中有 6 个为高度的组织特异性模块（$r > 0.65$，$P < 0.05$）（图 3）。在雌成蚊触角、喙、卵巢、下颚须以及雄成蚊脑和腹部末端组织中各鉴定出 1 个特异性模块。green 模块与雌成蚊触角存在高度相关性（$r = 0.69$，$P = 4E-06$），purple 模块与雌成蚊喙存在高度相关性（$r = 0.8$，$P = 4E-09$），turquoise 模块与雌成蚊卵巢存在高度正相关性（$r = 0.96$，$P = 4E-20$），red 模块与雌成蚊下颚须存在高度正相关性（$r = 0.69$，$P = 4E-06$）。与雄成蚊脑高度正相关的模块为 blue 模块（$r = 0.7$，$P = 2E-06$），与雄成蚊腹部末端高度正相关的模块为 magenta 模块（$r = 0.96$，$P = 2E-37$）。6 个组织特异性模块中没有任何一个模块和雄成蚊前足、中足、后足存在较高相关性。推测可能是这 3 个组织中的基因主要进行基本的生命活动，因此没有特异性的模块与之对应。

2.3　组织特异性模块 GO 和 KEGG 富集分析

组织特异性模块可能参与组织特有的生物学过程，为进一步解析组织特异性模块内基因的生物学功能，并与相应组织功能联系，同时也验证共表达网络构建和组织特异性模块的可靠性，对这 6 个特异性模块进行 GO 和 KEGG 富集分析。GO 富集分析结果表明（表 1），与雌成蚊触角高度正相关的 green 模块在纤毛组装、基于微管运动和细胞对刺激的反应等生物学过程中发挥主要作用，其主要的细胞组分为微管相关复合物、细胞外围、质膜等，具有气味结合、嗅觉受体活性、跨膜信号受体活性等生物学功

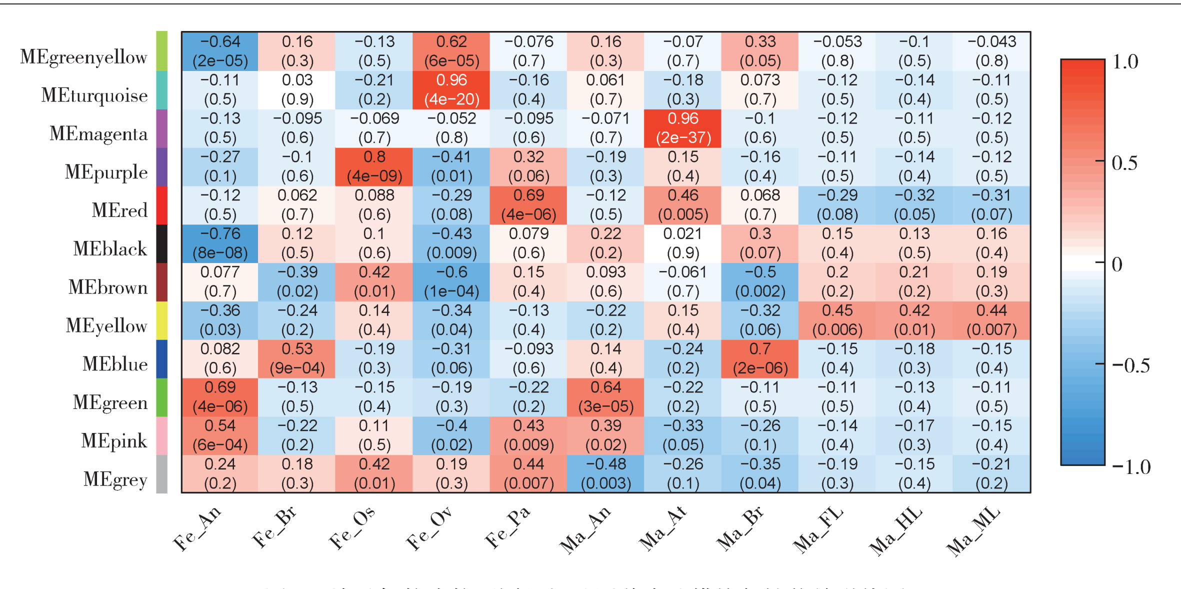


图 3　埃及伊蚊成蚊不同组织基因共表达模块与性状关联热图

Fig. 3　Heat map of module-trait relationship of different adult tissues in *Aedes aegypti*

Fe_An：雌蚊触角 Female antenna；Fe_Br：雌蚊脑 Female brain；Fe_Os：雌蚊喙 Female proboscis；Fe_Ov：雌蚊卵巢 Female ovary；Fe_Pa：雌蚊下颚须 Female maxillary palp；Ma_An：雄蚊触角 Male antenna；Ma_At：雄蚊腹部末端 Male abdominal tip；Ma_Br：雄蚊脑 Male brain；Ma_FL：雄蚊前足 Male foreleg；Ma_ML：雄蚊中足 Male midleg；Ma_HL：雄蚊后足 Male hindleg. MEgreenyellow：黄绿色模块特征向量基因 Module eigengene of green yellow module；MEturquoise：蓝绿色模块特征向量基因 Module eigengene of turquoise module；MEmagenta：品红色模块特征向量基因 Module eigengene of magenta module；MEpurple：紫色模块特征向量基因 Module eigengene of purple module；MEred：红色模块特征向量基因 Module eigengene of red module；MEblack：黑色模块特征向量基因 Module eigengene of black module；MEbrown：棕色模块特征向量基因 Module eigengene of brown module；MEyellow：黄色模块特征向量基因 Module eigengene of yellow module；MEblue：蓝色模块特征向量基因 Module eigengene of blue module；MEgreen：绿色模块特征向量基因 Module eigengene of green module；MEpink：粉红色模块特征向量基因 Module eigengene of pink module；MEgrey：灰色模块特征向量基因 Module eigengene of grey module. 该图基于 R 语言所得，横轴表示埃及伊蚊不同组织，纵轴表示每一个模块的特征向量。括号内数值表示模块与组织相关系数和统计显著性。相关系数越接近 1，表示模块与样品正相关性越强；越接近 −1，表示模块与样品负相关性越强。Based on the R language, the horizontal axis represents the different tissues of *A. aegypti*, and the vertical axis represents the module eigengene of each module. The values in parentheses represent the correlation coefficient and statistical significance between the module and the tissues. The closer the correlation coefficient is to 1, the stronger the positive correlation between the module and the sample; the closer to −1, the stronger the negative correlation between the module and the sample.

能；与雄成蚊脑高度正相关的 blue 模块在生物学过程调节、信号转导、神经系统过程等生物学过程中发挥主要作用，其主要的细胞组分为质膜、突触、突触后膜等，具有转运活性、神经递质受体活性、铁离子结合等功能；与雌成蚊喙高度正相关的 purple 模块具有丝氨酸型肽链内切酶活性、丝氨酸水解酶活性等功能；与雌成蚊卵巢高度正相关的 turquoise 模块在 DNA 复制、细胞分裂、细胞周期等生物学过程中发挥主要作用，其主要的细胞组分为核小体、染色体等，具有 DNA 结合、锌离子结合、微管结合、解旋酶活性等功能；与雌蚊下颚须高度正相关的 red 模块在有机酸代谢、羧酸代谢、细胞氨基酸代谢等生物学过程中发挥作用，其细胞组分为细胞外区域，具有丝氨酸型肽链内切酶活性、碳水化合物结合等功能；与雄成蚊腹部末端高度正相关的 magenta 模块在羧酸代谢、草酸代谢、有机酸代谢等生物学过程中发挥主要作用。

KEGG 富集分析结果表明（表 2），与雌成蚊触角高度正相关的 green 模块显著富集在药物代谢-细胞色素 P450、不饱和脂肪酸的生物合成以及谷胱甘肽代谢等通路；与雄成蚊脑高度正相关的 blue 模块显著富集在刺激神经组织中的交互、光传导以及其他多糖降解通路；与雌成蚊卵巢高度正相关的 turquoise 模块显著富集在 DNA 复制、错配修复、戊糖和葡萄糖醛酸盐的相互转化等通路；与雌成蚊下颚须高度正相关的 red 模块显著富集在甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸的代谢通路以及精氨酸和脯氨酸代谢通路；magenta 和 purple 模块未发现显著富集通路。

2.4　组织特异性模块 hub 基因识别

整合 CytoHubba 插件 12 种不同算法的结果，取重复出现次数大于 5 次的基因，共得到 47 个 hub 基因（green, blue, purple, turquoise, red 和 magenta 模块分别有 9, 5, 6, 9, 9 和 9 个）（表 3）。green, blue, purple, turquoise, red 和 magenta 模块中连通性最高的基因分别为 *AAEL010426*, *AAEL002896*, *AAEL002600*, *AAEL000961*, *AAEL007784* 和 *AAEL006429*。

表 1　埃及伊蚊成蚊组织特异性基因共表达模块的 GO 富集分析

Table 1　GO enrichment analysis of tissue specific gene co-expression module in *Aedes aegypti* adults

本体 Ontology	描述 Description	q 值 q-value	模块 Module	特异性相关组织 Specifically related tissue
BP	纤毛组装 Cilium assembly	1.35E-03	Green	雌蚊触角 Female antenna
BP	基于微管运动 Microtubule-based movement	2.47E-03	Green	雌蚊触角 Female antenna
BP	细胞对刺激的反应 Cellular response to stimulus	4.23E-17	Green	雌蚊触角 Female antenna
CC	质膜 Plasma membrane	2.25E-18	Green	雌蚊触角 Female antenna
CC	细胞外围 Cell periphery	5.56E-18	Green	雌蚊触角 Female antenna
CC	微管相关复合物 Microtubule associated complex	1.38E-03	Green	雌蚊触角 Female antenna
MF	气味结合 Odorant binding	1.67E-45	Green	雌蚊触角 Female antenna
MF	嗅觉受体活性 Olfactory receptor activity	7.97E-43	Green	雌蚊触角 Female antenna
MF	跨膜信号受体活性 Transmembrane signaling receptor activity	5.78E-31	Green	雌蚊触角 Female antenna
BP	生物学过程调节 Regulation of biological process	2.44E-05	Blue	雄蚊脑 Male brain
BP	信号转导 Signal transduction	7.80E-08	Blue	雄蚊脑 Male brain
BP	神经系统过程 Nervous system process	6.58E-03	Blue	雄蚊脑 Male brain
CC	质膜 Plasma membrane	1.78E-03	Blue	雄蚊脑 Male brain
CC	突触 Synapse	1.25E-04	Blue	雄蚊脑 Male brain
CC	突触后膜 Postsynaptic membrane	1.25E-04	Blue	雄蚊脑 Male brain
MF	转运活性 Transporter activity	8.97E-06	Blue	雄蚊脑 Male brain
MF	神经递质受体活性 Neurotransmitter receptor activity	6.60E-04	Blue	雄蚊脑 Male brain
MF	铁离子结合 Iron ion binding	3.73E-03	Blue	雄蚊脑 Male brain
MF	丝氨酸型肽链内切酶活性 Serine-type endopeptidase activity	4.78E-10	Purple	雌蚊喙 Female proboscis
MF	丝氨酸水解酶活性 Serine hydrolase activity	4.78E-10	Purple	雌蚊喙 Female proboscis
BP	DNA 复制 DNA replication	2.53E-05	Turquoise	雌蚊卵巢 Female ovary
BP	细胞分裂 Cell division	8.52E-04	Turquoise	雌蚊卵巢 Female ovary
BP	细胞周期 Cell cycle	1.48E-03	Turquoise	雌蚊卵巢 Female ovary
CC	核小体 Nucleosome	8.46E-03	Turquoise	雌蚊卵巢 Female ovary
CC	染色体 Chromosome	5.14E-06	Turquoise	雌蚊卵巢 Female ovary
MF	DNA 结合 DNA binding	2.02E-04	Turquoise	雌蚊卵巢 Female ovary
MF	锌离子结合 Zinc ion binding	5.15E-03	Turquoise	雌蚊卵巢 Female ovary
MF	微管结合 Microtubule binding	4.33E-03	Turquoise	雌蚊卵巢 Female ovary
MF	解旋酶活性 Helicase activity	4.33E-03	Turquoise	雌蚊卵巢 Female ovary
BP	有机酸代谢过程 Organic acid metabolic process	2.02E-03	Red	雌蚊下颚须 Female maxillary palp
BP	细胞氨基酸代谢过程 Cellular amino acid metabolic process	5.61E-03	Red	雌蚊下颚须 Female maxillary palp
BP	羧酸代谢过程 Carboxylic acid metabolic process	5.61E-03	Red	雌蚊下颚须 Female maxillary palp
CC	细胞外区域 Extracellular region part	3.74E-04	Red	雌蚊下颚须 Female maxillary palp
MF	丝氨酸型肽链内切酶活性 Serine-type endopeptidase activity	1.45E-10	Red	雌蚊下颚须 Female maxillary palp
MF	碳水化合物结合 Carbohydrate binding	5.55E-03	Red	雌蚊下颚须 Female maxillary palp
BP	羧酸代谢过程 Carboxylic acid metabolic process	3.45E-03	Magenta	雄蚊腹部末端 Male abdominal tip
BP	有机酸代谢过程 Organic acid metabolic process	3.45E-03	Magenta	雄蚊腹部末端 Male abdominal tip
BP	草酸代谢过程 Oxoacid metabolic process	3.45E-03	Magenta	雄蚊腹部末端 Male abdominal tip

BP：生物学过程 Biological process；CC：细胞组分 Cellular component；MF：分子功能 Molecular function. *q* 值 *q*-value：校正后的 *P* 值 Corrected *P*-value.

基于 WGCNA 共表达网络分析结果，对组织特异性模块内连通性最高的核心基因进行可视化展示，因与核心基因互作的基因较多，仅对权重值前 50 个有关联的基因进行可视化（图 4）。结果发现，green 模块的基因在雌/雄成蚊触角中高表达，与核心基因 *AAEL*010426 具有较高互作网络关系的基因为 *AAEL*017505，*AAEL*017129，*AAEL*017104，*AAEL*007147 和 *AAEL*013563；blue 模块的基因在雌/雄成蚊脑中高表达，与核心基因 *AAEL*002896 具有较高互作网络关系的基因为 *AAEL*012541，*AAEL*004246，*AAEL*007559，*AAEL*003472 和 *AAEL*002220；purple 模块的基因在雌成蚊喙中表达最高，与核心基因 *AAEL*002600 具有较高互作网络关系的基因为 *AAEL*014382，*AAEL*017265，*AAEL*011610，*AAEL*013032

表 2　埃及伊蚊成蚊组织特异性基因共表达模块的 KEGG 富集分析

Table 2　KEGG enrichment analysis of tissue specific gene co-expression module in *Aedes aegypti* adults

描述 Description	*q* 值 *q*-value	模块 Module	特异性相关组织 Specifically related tissue
药物代谢-细胞色素 P450 Drug metabolism-cytochrome P450	2.05E－03	Green	雌蚊触角 Female antenna
不饱和脂肪酸的生物合成 Biosynthesis of unsaturated fatty acids	2.05E－03	Green	雌蚊触角 Female antenna
谷胱甘肽代谢 Glutathione metabolism	4.56E－03	Green	雌蚊触角 Female antenna
光传导 Phototransduction	6.32E－06	Blue	雄蚊脑 Male brain
刺激神经组织中的交互 Neuroactive ligand-receptor interaction	3.39E－05	Blue	雄蚊脑 Male brain
其他多糖降解 Other glycan degradation	3.18E－04	Blue	雄蚊脑 Male brain
DNA 复制 DNA replication	5.04E－07	Turquoise	雌蚊卵巢 Female ovary
背腹轴形成 Dorso-ventral axis formation	3.93E－03	Turquoise	雌蚊卵巢 Female ovary
错配修复 Mismatch repair	5.49E－03	Turquoise	雌蚊卵巢 Female ovary
戊糖和葡萄糖醛酸盐的相互转化 Pentose and glucuronate interconversions	7.13E－03	Turquoise	雌蚊卵巢 Female ovary
甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸的代谢 Glycine, serine and threonine metabolism	5.02E－04	Red	雌蚊下颚须 Female maxillary palp
精氨酸和脯氨酸代谢 Arginine and proline metabolism	9.49E－04	Red	雌蚊下颚须 Female maxillary palp

q 值 *q*-value：校正后的 *P* 值 Corrected *P*-value.

表 3　埃及伊蚊成蚊组织特异性基因共表达模块内的 hub 基因

Table 3　Hub genes within a tissue-specific module in *Aedes aegypti* adults

模块 Module	组织 Tissue	核心基因 Hub gene
Green	雌蚊触角 Female antenna	*AAEL*010426, *AAEL*001224, *AAEL*005810, *AAEL*007669, *AAEL*010214, *AAEL*012424, *AAEL*013197, *AAEL*001510, *AAEL*014089
Blue	雄蚊脑 Male brain	*AAEL*010918, *AAEL*002896, *AAEL*001696, *AAEL*002713, *AAEL*012850
Purple	雌蚊喙 Female proboscis	*AAEL*000011, *AAEL*000039, *AAEL*002600, *AAEL*005093, *AAEL*013033, *AAEL*013032
Turquoise	雌蚊卵巢 Female ovary	*AAEL*006726, *AAEL*008595, *AAEL*009263, *AAEL*000961, *AAEL*003226, *AAEL*004831, *AAEL*009654, *AAEL*015127, *AAEL*014276
Red	雌蚊下颚须 Female maxillary palp	*AAEL*000044, *AAEL*007784, *AAEL*011624, *AAEL*007033, *AAEL*000311, *AAEL*003405, *AAEL*006920, *AAEL*007102, *AAEL*013417
Magenta	雄蚊腹部末端 Male abdominal tip	*AAEL*006427, *AAEL*017027, *AAEL*006429, *AAEL*012488, *AAEL*017567, *AAEL*004679, *AAEL*004944, *AAEL*006418, *AAEL*010040

和 *AAEL*014390；turquoise 模块的基因在雌成蚊卵巢中高表达，与核心基因 *AAEL*000961 具有较高互作网络关系的基因为 *AAEL*000898，*AAEL*013338，*AAEL*000923，*AAEL*007879 和 *AAEL*011516；red 模块的基因在雌成蚊下颚须、雄成蚊腹部末端较高表达，与核心基因 *AAEL*007784 具有较高互作网络关系的基因为 *AAEL*000044，*AAEL*003114，*AAEL*007033，*AAEL*002624 和 *AAEL*012726；magenta 模块的基因在雄成蚊腹部末端高表达，与核心基因 *AAEL*006429 具有较高互作网络关系的基因为 *AAEL*010040，*AAEL*006414，*AAEL*002000，*AAEL*001550 和 *AAEL*005107。

已知 *AAEL*007373 和 *AAEL*008046 可能参与埃及伊蚊寻找宿主过程中氨的检测（Matthews *et al*., 2016）。基于 WGCNA 分析结果，发现 *AAEL*007373 被划分到 green 模块，该模块基因在雌/雄成蚊触角中高表达；*AAEL*008046 被划分到 blue 模块，该模块基因在雌/雄成蚊脑中高表达。以这两个基因为核心构建局部网络（图 5），发现 green 模块内的基因 *AAEL*007373 与离子通道型受体基因 *AAEL*000047、气味受体基因 *AAEL*015147 和 *AAEL*005999 等具有较高互作网络关系；green 模块内的核心基因 *AAEL*014089，*AAEL*007669，*AAEL*012424，*AAEL*010426，*AAEL*001510 和 *AAEL*013197 也均与其存在互作。blue 模块内的基因 *AAEL*008046 与 *AAEL*004246，*AAEL*006825 和 *AAEL*000504 等存在关联；blue 模块内的核心基因 *AAEL*002896，*AAEL*010918 和 *AAEL*001696 也与其存在互作网络关系。

3　讨论与结论

基因的表达存在相关性，功能相关的一组基因常协调一致，共同表达。对蚊虫不同组织的基因共

图 4　埃及伊蚊成蚊组织特异性基因共表达模块内连通性最高的核心基因的基因网络

Fig. 4　Gene networks of the most interconnected hub gene in the tissue-specific gene co-expression module of *Aedes aegypti* adults

图中绿色、蓝色、紫色、蓝绿色、红色和品红色线条分别表示 green，blue，purple，turquoise，red 和 magenta 模块。每个网络图中位于中心的为该组织特异性基因共表达模块内连通性最高的核心基因，其余带有颜色标记的基因表示与模块内连通性最高的核心基因具有较高互作网络关系的前 5 个基因，颜色越深表示互作关系越强。网络中只列出与核心基因互作权重值较高的基因。The green，blue，purple，turquoise，red，and magenta lines in the figure represent the green，blue，purple，turquoise，red，and magenta modules，respectively. At the center of each network diagram is the hub gene with the highest connectivity within the tissue-specific gene co-expression module. The remaining genes with color marks represent the top 5 genes with a higher interactive network relationship with the hub genes with the highest connectivity in the module. The darker the color，the stronger the interactive relationship. In the network，only the genes with high weights interacted with the hub genes were listed.

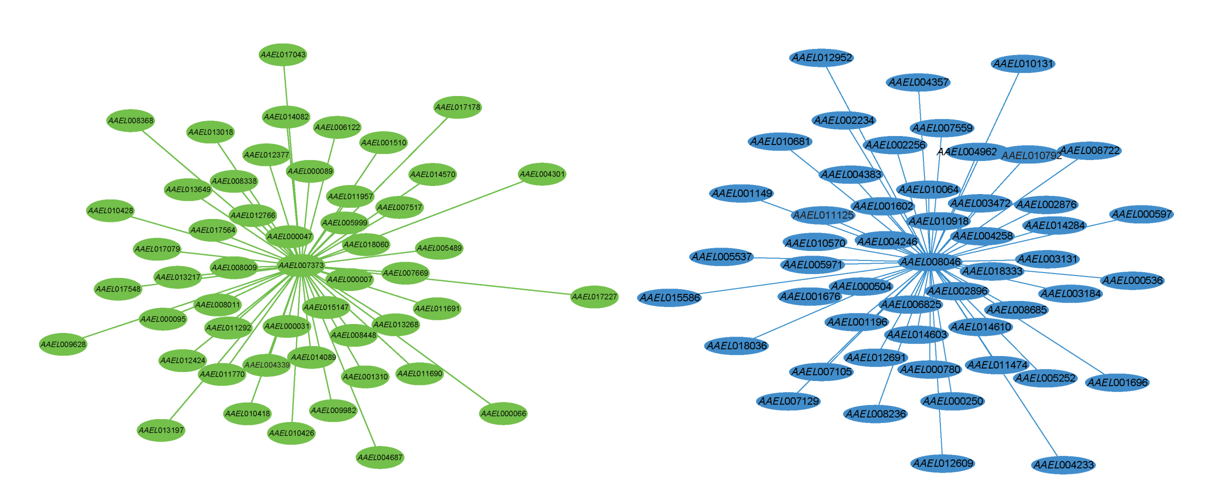


图 5　埃及伊蚊 *AAEL*007373 和 *AAEL*008046 的基因网络

Fig. 5　Gene networks of *AAEL*007373 and *AAEL*008046 of *Aedes aegypti*

图中绿色和蓝色分别表示 green 和 blue 模块。网络中只列出与核心基因互作权重值较高的基因。Green and blue colors in the figure represent green and blue modules，respectively. In the network，only the genes with high weights interacted with the hub genes were listed.

表达模式进行研究，可获得组织特有的基因资源信息，得到组织在行使功能过程中的共表达基因以及起重要作用的核心基因，帮助研究者深入理解组织中基因间的相互作用模式，进而解析基因功能与组织生物学功能的联系，筛选遗传控制的靶标基因。在大样本转录组数据中，传统的差异分析或趋势分

析，仅罗列了单一的基因列表，无法得到基因间的相关性，并对基因进行有效的分类，亦不能推测新的基因相互作用关系。WGCNA 分析从系统角度出发，将协同变化的基因进行聚类，以网络模块的形式呈现基因的共表达特性。其优势在于，将海量的数据进行归纳和整理，高效研究基因整体表达规律，并系统地反馈样本中基因间的相互作用模式，同时可特异性地筛选出与样本性状相关的基因模块和 hub 基因。作为一种高效的数据挖掘手段，其在多样本 RNA-Seq 数据的应用中越来越流行（Zhao *et al*., 2010；巨飞燕等, 2019）。WGCNA 分析可为蚊虫不同组织的基因共表达模式研究提供新思路。

本研究利用 WGCNA 方法对埃及伊蚊成蚊不同组织的基因共表达模式进行研究，构建了埃及伊蚊 9 种组织加权基因共表达网络，结果显示埃及伊蚊这 9 种组织涉及 11 个基因共表达模块（图 2）；将转录组数据对应的不同组织（雌蚊：脑、触角、喙、下颚须、卵巢；雄蚊：脑、触角、前足、中足、后足、腹部末端）作为研究的性状，成功鉴定到与雌蚊触角、喙、下颚须、卵巢以及雄蚊脑、腹部末端相关的 6 个组织特异性模块，分别为 green, purple, red, turquoise, blue 和 magenta 模块（图 2）。蚊虫分化成熟的多个组织共同支撑其追寻寄主、吸取血液、交配产卵、传播疾病等生命活动过程。研究表明，蚊虫可利用多种化学和物理线索，如宿主释放的气味、CO_2、周围环境的化学信号以及雌蚊翅产生的特定频率等，并据此定位宿主的位置、选择配偶和找寻产卵地点（Hartberg, 1971; Cator *et al*., 2009; Matthews *et al*., 2016）。触角、喙和下颚须在此过程中起着极其重要的作用，因此它们被认为是蚊虫防治控制的重要靶标之一（张晶晶, 2019）。其中触角是蚊虫最主要的嗅觉器官，在成蚊触角上有许多被称为感受器的感觉结构，这是进行化学感知的物理位置（张静等, 2019）；喙是蚊虫在进食过程中处理味觉代码的重要头部附属物，其作为探针到达宿主皮肤下的血管（Maekawa *et al*., 2011）。下颚须是蚊虫主要的化学感觉器官，可感知 CO_2 和挥发性气味物质等（Grant *et al*., 1995）。脑是蚊虫神经调节的重要场所，也是目前蚊虫生物防控研究的热点之一，其内含有多种神经递质，如乙酰胆碱、GABA 以及谷氨酸等（Matthews *et al*., 2016）。在脑的高级处理中心可整合嗅觉和其他感觉模式，最终将这些信号转化为行为，其可能是蚊虫防控的一个新靶标（Riabinina *et al*., 2016）。而卵巢、腹部末端是与蚊虫生殖细胞发育、繁殖相关的重要场所，有研究认为可通过将雌蚊转化为无害的雄蚊的策略而实现蚊虫防控，提示调节蚊虫性别分化过程可能是当前防控蚊虫的一个重要突破口（Hall *et al*., 2015）。对 6 个组织特异性模块内基因的注释分析发现，与雌成蚊触角特异性相关的 green 模块具有气味结合和嗅觉受体活性等功能；与雌成蚊喙特异性相关的 purple 模块具有丝氨酸型肽链内切酶活性和丝氨酸水解酶活性等功能；与雌成蚊下颚须正相关的 red 模块具有丝氨酸型肽链内切酶活性和碳水化合物结合等功能；与雄成蚊脑特异性相关的 blue 模块在生物学过程调节、信号转导、神经系统过程等生物学过程中发挥主要作用；与雌成蚊卵巢特异性相关的 turquoise 模块在 DNA 复制、细胞分裂、细胞周期等生物学过程中发挥主要作用；与雄成蚊腹部末端特异性相关的 magenta 模块在羧酸代谢、草酸代谢、有机酸代谢等生物学过程中发挥主要作用（表 1 和 2）。其均能与对应组织功能相联系，说明组织特异性模块的识别可靠，可用于后续相关信息的挖掘。

核心基因在基因表达网络中具有高的连接度，其往往是重要的作用靶点和研究热点，在生物学过程中起着关键作用。但通过 Cytoscape 构建基因互作网络后，较多的 node 和 edge 常会掩盖真正的核心基因，影响筛选过程。因此本研究采用 Cytoscape 软件中的 CytoHubba 插件，进一步缩小了 6 个组织特异性模块中核心基因的搜索范围，共筛选出 47 个在模块内可能起重要作用的 hub 基因（表 3）。这些基因大多可在黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 中找到对应直系同源物。green 模块内 *AAEL*005810, *AAEL*007669, *AAEL*010214 和 *AAEL*013197 在黑腹果蝇中的直系同源基因分别为 *CG*14085, *Antdh*, *CCDC*151 和 *CG*4362；blue 模块内 hub 基因在黑腹果蝇中均有直系同源物；turquoise 模块内 *AAEL*008595, *AAEL*000961 和 *AAEL*003226 在黑腹果蝇中有直系同源基因，分别为 *Mael*, *Clos* 和 *Cpr49Aa-Cpr65Az*；red 模块内 *AAEL*007033, *AAEL*000311 和 *AAEL*013417 在黑腹果蝇中直系同源基因分别为 *P5cr*-2, *Fon* 和 *CG*30280；magenta 模块内 *AAEL*006427, *AAEL*006429, *AAEL*017567 和 *AAEL*004944 在黑腹果蝇中的直系同源基因分别为 *CG17571-thetaTry*, *thetaTry-CG*17571, *Nep*5 和 *Muc12Ea*（Matthews *et al*., 2016）。47 个 hub 基因中，29 个基因为已知功能基因。如与雌成蚊触角特异性相关的 green 模块中，共筛选出 9 个 hub 基因

（表 3），其中 *AAEL*010426 和 *AAEL*001510 被描述为气味受体家族基因（He *et al*., 2015；Matthews *et al*., 2016）；*AAEL*014089 属于离子受体家族基因；*AAEL*010214 编码卷曲螺旋结构域蛋白，*AAEL*012424 编码微管蛋白。与雌成蚊喙特异性相关的 purple 模块中，共筛选出 6 个 hub 基因（表 3），其中 *AAEL*000011 和 *AAEL*000039 属于离子受体家族基因（Matthews *et al*., 2016）；*AAEL*002600，*AAEL*013033 和 *AAEL*013032 被描述为丝氨酸蛋白酶家族基因（Bartholomay *et al*., 2004；Matthews *et al*., 2016）。与雌成蚊下颚须特异性相关的 red 模块中，共筛选出 9 个 hub 基因（表 3），其中 *AAEL*011624 属于丝氨酸蛋白酶家族基因，*AAEL*000044 属于鸟氨酸脱羧酶家族基因，*AAEL*013417 编码血管生成素相关蛋白（Matthews *et al*., 2016）；*AAEL*007033 编码 A-凝集素锚定亚基，*AAEL*003405 为微管动态蛋白的调节因子，*AAEL*006920 被描述为 G 蛋白偶联受体家族基因（Bartholomay *et al*., 2004；Matthews *et al*., 2016）。筛选到的 hub 基因功能与组织功能相关，表明筛选到的基因较为可靠，但有的 hub 基因的报道研究甚少，提示后续可进一步通过 blast，RT-PCR 以及 RNA 干扰等手段对筛选到的 hub 基因功能进行预测和检验。Matthews 等（2016）认为 2 个与氨转运有关的基因 *AAEL*007373 和 *AAEL*008046 可能参与埃及伊蚊寻找宿主过程中氨的检测，本研究 WGCNA 分析结果发现 *AAEL*007373 被划分到 green 模块，其在雌/雄蚊触角中高表达，*AAEL*008046 被划分到 blue 模块，其在雌/雄蚊脑中高表达，这与 Matthews 等（2016）报道相符，此外，本研究构建了以这两个基因为核心的局部网络，揭示其基因网络关系（图 5）。*AAEL*000252 被报道为雌蚊富集表达基因（Matthews *et al*., 2016），在本研究中被划分到 turquoise 模块，其在雌成蚊卵巢中高表达；*AAEL*010631 被报道为雄蚊富集表达基因（Matthews *et al*., 2016），被划分到 magenta 模块，其在雄成蚊腹部末端中高表达。

本研究是基于 WGCNA 方法和转录组数据对蚊虫不同组织基因共表达模式的首次探索。构建了埃及伊蚊成蚊 9 种组织加权基因共表达网络，获得了 11 个基因共表达模块，其中，6 个模块与组织特异性相关。完成了组织特异性模块内基因的功能富集分析，发现这些模块的生物学功能均与对应组织功能密切相关。此外，鉴定了 6 个组织特异性模块内共 47 个 hub 基因，揭示了其基因互作网络关系。本研究结果可为蚊虫基因共表达模式分析提供方法基础，对探究蚊虫不同组织特有的基因资源信息以及功能基因生物信息研究有参考价值。

参考文献（References）

Akbari OS, Antoshechkin I, Amrhein H, Williams B, Diloreto R, Sandler J, Hay BA, 2013. The developmental transcriptome of the mosquito *Aedes aegypti*, an invasive species and major arbovirus vector. *G3: Genes Genomes Genetics*, 3(9): 1493–1509.

Bartholomay LC, Cho WL, Rocheleau TA, Boyle JP, Beck ET, Fuchs JF, Liss P, Rusch M, Butler KM, Wu RCC, Lin SP, Kuo HY, Tsao IY, Huang CY, Liu TT, Hsiao KJ, Tsai SF, Yang UC, Nappi AJ, Perna NT, Chen CC, Christensen BM, 2004. Description of the transcriptomes of immune response-activated hemocytes from the mosquito vectors *Aedes aegypti* and *Armigeres subalbatus*. *Infect. Immun*., 72(7): 4114–4126.

Cator LJ, Arthur BJ, Harrington LC, Hoy RR, 2009. Harmonic convergence in the love songs of the dengue vector mosquito. *Science*, 323(5917): 1077–1079.

Chen Q, Pei D, Li J, Jing C, Wu W, Man Y, 2017. The antenna transcriptome changes in mosquito *Anopheles sinensis*, pre- and post-blood meal. *PLoS ONE*, 12(7): e0181399.

Deng T, Liang A, Liang S, Ma X, Lu X, Duan A, Pang C, Hua G, Liu S, Campanile G, Salzano A, Gasparrini B, Neglia G, Liang X, Yang L, 2019. Integrative analysis of transcriptome and GWAS data to identify the hub genes associated with milk yield trait in buffalo. *Front. Genet*., 10: 36.

Downs GS, Bi YM, Colasanti J, Wu W, Chen X, Zhu T, Rothstein SJ, Lukens LN, 2013. A developmental transcriptional network for maize defines coexpression modules. *Plant Physiol*., 161(4): 1830–1843.

Fu WB, Chen B, 2018. Taxonomy and fauna of Culicidae: history and current knowledge. *Acta Entomol. Sin*., 61(1): 122–138. [付文博，陈斌，2018. 蚊科昆虫分类及区系研究历史和现状概述. 昆虫学报，61(1): 122–138]

Grant AJ, Aghajanian JG, O′Connell RJ, Wigton BE, 1995. Electrophysiological responses of receptor neurons in mosquito maxillary palp sensilla to carbon dioxide. *J. Comp. Physiol. A*, 177(4): 389–396.

Greenham K, Guadagno CR, Gehan MA, Mockler TC, Weinig C, Ewers BE, McClung CR, 2017. Temporal network analysis identifies early physiological and transcriptomic indicators of mild drought in *Brassica rapa*. *eLife*, 6: e29655.

Hall AB, Basu S, Jiang X, Qi Y, Timoshevskiy VA, Biedler JK, Sharakhova MV, Elahi R, Anderson MAE, Chen XG, Sharakhov IV, Adelman ZN, Tu Z, 2015. A male-determining factor in the mosquito *Aedes aegypti*. *Science*, 348(6240): 1268–1270.

Hartberg WK, 1971. Observations on the mating behaviour of *Aedes aegypti* in nature. *Bull. World Health Organ*., 45(6): 847–850.

He M, Zhang YN, He P, 2015. Molecular characterization and differential expression of an olfactory receptor gene family in the

white-backed planthopper *Sogatella furcifera* based on transcriptome analysis. *PLoS ONE*, 10(11): e0140605.

Hickner PV, Mori A, Zeng E, Tan JC, Severson DW, 2015. Whole transcriptome responses among females of the filariasis and arbovirus vector mosquito *Culex pipiens* implicate TGF-β signaling and chromatin modification as key drivers of diapause induction. *Funct. Integr. Genomics*, 15(4): 439-447.

Ju FY, Zhang SP, Liu SD, Ma HJ, Chen J, Ge CW, Shen Q, Zhang XM, Liu RH, Zhao XH, Zhang YJ, Pang CY, 2019. Identification of co-expression modules of genes related to internode elongation of cotton fruiting branches by WGCNA. *Cotton Sci.*, 31(5): 403-413. [巨飞燕, 张思平, 刘绍东, 马慧娟, 陈静, 葛常伟, 沈倩, 张小萌, 刘瑞华, 赵新华, 张永江, 庞朝友, 2019. 利用 WGCNA 进行棉花果枝节间伸长相关基因共表达模块鉴定. 棉花学报, 31(5): 403-413]

Kang DS, Barron MS, Lovin DD, Cunningham JM, Eng MW, Chadee DD, Li J, Severson DW, 2018. A transcriptomic survey of the impact of environmental stress on response to dengue virus in the mosquito, *Aedes aegypti*. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 12(6): e0006568.

Langfelder P, Horvath S, 2008. WGCNA: an R package for weighted correlation network analysis. *BMC Bioinform.*, 9(1): 559-572.

Liu W, Li L, Long XH, You WX, Zhong YX, Wang ML, Tao H, Lin SK, He HQ, 2018. Construction and analysis of gene co-expression networks in *Escherichia coli*. *Cells*, 7(3): 19-29.

Maekawa E, Aonuma H, Nelson B, Yoshimura A, Tokunaga F, Fukumoto S, Kanuka H, 2011. The role of proboscis of the malaria vector mosquito *Anopheles stephensi* in host-seeking behavior. *Parasit. Vectors*, 4: 10.

Martínez-Barnetche J, Gómez-Barreto RE, Ovilla-Muñoz M, Téllez-Sosa J, López DEG, Dinglasan RR, Mohien CU, MacCallum RM, Redmond SN, Gibbons JG, Rokas A, Machado CA, Cazares-Raga FE, González-Cerón L, Hernández-Martínez S, López MHR, 2012. Transcriptome of the adult female malaria mosquito vector *Anopheles albimanus*. *BMC Genomics*, 13(1): 207-224.

Matthews BJ, McBride CS, DeGennaro M, Despo O, Vosshall LB, 2016. The neurotranscriptome of the *Aedes aegypti* mosquito. *BMC Genomics*, 17(1): 32.

Riabinina O, Task D, Marr E, Lin CC, Alford R, O'Brochta DA, Potter CJ, 2016. Organization of olfactory centres in the malaria mosquito *Anopheles gambiae*. *Nat. Commun.*, 7: 13010.

Su G, Morris JH, Demchak B, Bader GD, 2014. Biological network exploration with Cytoscape 3. *Curr. Protoc. Bioinform.*, 47: 8.13.1-8.13.24.

Tolle MA, 2009. Mosquito-borne diseases. *Curr. Probl. Pediatr. Adolesc. Health Care*, 39(4): 97-140.

Wang Z, Gerstein M, Snyder M, 2010. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. *Nat. Rev. Genet.*, 10(1): 57-63.

Yang YX, Sang ZQ, Xu C, Dai WS, Zou C, 2019. Identification of maize flowering gene co-expression modules by WGCNA. *Acta Agron. Sin.*, 45(2): 161-172. [杨宇昕, 桑志勤, 许诚, 代文双, 邹枨, 2019. 利用 WGCNA 进行玉米花期基因共表达模块鉴定. 作物学报, 45(2): 161-172]

Yu GC, Wang LG, Han Y, He QY, 2012. clusterProfiler: an R package for comparing biological themes among gene clusters. *OMICS: J. Integr. Biol.*, 16(5): 284-287.

Zhang J, Zhang JJ, Shi ZP, Yan ZT, Chen B, He ZB, 2019. Observation of antennal sensilla of the malaria vector *Anopheles sinensis* (Diptera: Culicidae) under scanning electron microscope. *Acta Entomol. Sin.*, 62(3): 40-50. [张静, 张晶晶, 史宗畔, 闫振天, 陈斌, 何正波, 2019. 疟疾媒介中华按蚊触角感器的扫描电镜观察. 昆虫学报, 62(3): 40-50]

Zhang JJ, 2019. Transcriptome Profiling of Chemosensory Genes in Different Chemosensory Organs of the Malaria Vector *Anopheles sinensis*. MSc Thesis, Chongqing Normal University, Chongqing. [张晶晶, 2019. 中华按蚊化感组织的转录组测序及化感基因的表达谱分析. 重庆: 重庆师范大学硕士学位论文]

Zhao W, Langfelder P, Fuller T, Dong J, Li A, Hovarth S, 2010. Weighted gene coexpression network analysis: state of the art. *J. Biopharm. Stat.*, 20(2): 281-300.

Zhao ZH, 2017. Exploring Functional Gene Modules in Lung Adenocarcinoma with Weighted Gene Co-expression Network Analysis (WGCNA). PhD Dissertation, Peking Union Medical College, Beijing. [赵志洪, 2017. 加权基因共表达网络分析(WGCNA)探索肺腺癌中的功能基因模块. 北京: 北京协和医学院博士学位论文]

(责任编辑: 马丽萍)